

**BEST AVAILABLE COPY**  
**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN.**

(11)Publication number : 06-072845  
(43)Date of publication of application : 15.03.1994

(51)Int.Cl. A61K 7/48  
A61K 7/00  
A61K 7/50

(21)Application number : 04-253560 (71)Applicant : EISAI CO LTD  
(22)Date of filing : 31.08.1992 (72)Inventor : SAKAI TATSU  
TANAKA TOMOHIDE  
SATOU KANA  
MORITA YUTAKA  
HIBI TAKASHI  
TANABE YOSHIO  
OSAWA SHIGEMITSU

**(54) SKIN COLOR-LIGHTENING AGENT**

**(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To provide cosmetics or bath medicines which have a stronger action to inhibit melanin formation than any conventional inhibitors and show an excellent skin color-lightening action.

**CONSTITUTION:** The objective skin color-lightening cosmetics or bath medicines contain (1) natural vitamin E other than d- $\alpha$ -tocopherol, (2) natural vitamin E other than d- $\alpha$ -tocopherol-ascorbic acid or its pharmacologically permissible salts or their derivatives, or (3) natural vitamin E other than d- $\alpha$ -tocopherol and kojic acid. Natural vitamin E other than d- $\alpha$ -tocopherol, particularly d- $\delta$ -tocopherol has the action to inhibit the melanin formation superior to the conventional inhibitors and the combination thereof with L-ascorbic acid or kojic acid more increases the skin color-lightening action.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-72845

(43)公開日 平成6年(1994)3月15日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A 6 1 K	7/48	9051-4C		
	7/00	H 9164-4C		
		D 9164-4C		
		X 9164-4C		
	7/50	9283-4C		

審査請求 未請求 請求項の数12(全 13 頁)

(21)出願番号 特願平4-253560

(22)出願日 平成4年(1992)8月31日

(71)出願人 000000217

エーザイ株式会社

東京都文京区小石川4丁目6番10号

(72)発明者 酒井 達

埼玉県本庄市北掘 450-247

(72)発明者 田中 智英

埼玉県本庄市駅南2-8 エトワール本庄  
704

(72)発明者 佐藤 加名

埼玉県児玉市玉町八幡山 392-6

(72)発明者 森田 豊

埼玉県本庄市北掘 510-59

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 美白剤

(57)【要約】

【目的】従来用いられてきた素材より強力にメラニン産生を抑制し、優れた美白作用を有する化粧料・浴用剤を提供する。

【構成】(1) d- $\alpha$ -トコフェロールを除く天然ビタミンE、(2) d- $\alpha$ -トコフェロールを除く天然ビタミンEとL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体、(3) d- $\alpha$ -トコフェロールを除く天然ビタミンEとコウジ酸を含有する美白化粧料・浴用剤。d- $\alpha$ -トコフェロールを除く天然ビタミンE、特にd- $\delta$ -トコフェロールは従来の素材に優るメラニン産生抑制作用を有し、L-アスコルビン酸もしくはコウジ酸を併用することにより、さらに美白作用を高める。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】d- $\delta$ -トコフェロールを有効成分とする美白化粧料

【請求項2】d- $\delta$ -トコフェロールを有効成分とする美白浴用剤

【請求項3】d- $\delta$ -トコフェロールとL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体を有効成分とする美白化粧料

【請求項4】d- $\delta$ -トコフェロールとL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体を有効成分とする美白浴用剤

【請求項5】d- $\delta$ -トコフェロールとコウジ酸を有効成分とする美白化粧料

【請求項6】d- $\delta$ -トコフェロールとコウジ酸を有効成分とする美白浴用剤

【請求項7】d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよびd- $\beta$ -トコフェロールから選択される1種または2種以上の天然ビタミンEを有効成分とする美白化粧料

【請求項8】d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよびd- $\beta$ -トコフェロールから選択される1種または2種以上の天然ビタミンEを有効成分とする美白浴用剤

【請求項9】d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよびd- $\beta$ -トコフェロールから選択される1種または2種以上の天然ビタミンEとL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体を有効成分とする美白化粧料

【請求項10】d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよびd- $\beta$ -トコフェロールから選択される1種または2種以上の天然ビタミンEとL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体を有効成分とする美白浴用剤

【請求項11】d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよびd- $\beta$ -トコフェロールから選択される1種または2種以上の天然ビタミンEとコウジ酸を有効成分とする美白化粧料

【請求項12】d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよびd- $\beta$ -トコフェロールから選択される1種または2種以上の天然ビタミンEとコウジ酸を有効成分とする美白浴用剤

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、皮膚の色調を決定づける最大の因子である、メラニンの生成を抑制ならびに調節する美白化粧料・浴用剤に関する。

## 【0002】

【発明の背景】古来より女性の肌の白さと透明感は、洗練された美しさの基本要件である。皮膚への主な色素沈着は、日光の照射を受けた皮膚のメラニン形成細胞にお

いて、メラニンが形成されるために起こる。近年、色素沈着を予防・改善・治療する美白剤として、いくつかのメラニンの生合成機序に直接作用する優れた素材が開発されてきた。具体的には、チロシンからメラニンを生成する反応を触媒する酸化酵素であるチロシナーゼの活性を阻害する素材としてはコウジ酸、L-アスコルビン酸もしくはその誘導体、グルタチオンや2-メルカプトプロピオニルグリシン等の硫黄化合物およびアゼライン酸などを、またチロシナーゼの生合成を抑制する素材としてはヒドロキノンならびにその誘導体たとえばアルブチンなどを挙げるができる。それぞれの素材には固有の特徴があり、臨床的にも高い有用性が認められているが、最近ではより優れた効果を求めて、これら素材を複数組み合わせた組成や、吸収あるいは安定性を改善するための製剤の工夫が盛んに研究されている。

## 【0003】

【従来技術】従来美白剤には、一般的にはd1- $\alpha$ -トコフェロールまたはd- $\alpha$ -トコフェロールを意味するビタミンE、L-アスコルビン酸もしくはコウジ酸を、単独あるいは2種類以上組合わせて用いられてきた。しかし最近ではより優れた効果を得るために、主に2種類以上を組合わせた組成物が用いられている。

【0004】たとえばビタミンEとコウジ酸の組合せとして、特公昭63-24968公報には、コウジ酸および／またはコウジ酸誘導体の水溶液とビタミンEおよび／またはビタミンE誘導体の水溶液または懸濁液を含有することを特徴とするメラニン生成抑制外用剤が開示されている。この公報において実施例として具体的に開示されているビタミンEは、合成品である酢酸d1- $\alpha$ -トコフェロールおよびd1- $\alpha$ -トコフェロールである。

【0005】またビタミンEとL-アスコルビン酸の組合せとして、特開昭61-207312公報には、(1) 8-0-アルキル-L-アスコルビン酸誘導体と皮膚賦活作用を有する成分とを配合することを特徴とする美白化粧料、(2) 皮膚賦活作用を有する成分が、ジイソプロピルアミン、ジクロロアセテート、 $\gamma$ -アミノ酪酸、ビタミンEアセテート、ビタミンEニコチネート、ビタミンEオロテートからなる群から選択された化合物の少なくとも一種である美白化粧料が開示されている。ただしこの公報では、ビタミンE同族体の種類あるいは天然品／合成品の区別に関する具体的な開示はない。

【0006】さらに特開平3-153610公報には、アゼライン酸のビタミンE誘導体およびその塩類の少なくとも一種と、L-アスコルビン酸硫酸エステル塩類およびL-アスコルビン酸リン酸エステル塩類の少なくとも一種とを含有してなる美白化粧料が開示されている。この公報においても、ビタミンE同族体の種類あるいは天然品／合成品の区別に関する具体的な開示はない。

## 【0007】

【本発明が解決しようとする問題点】しかしながら前記

の従来用いられている素材単独では、十分な美白効果は得られず、複数を組み合わせた組成においても完全に満足の得られるものはまだなかった。これは従来用いられている素材が有するメラニン生成抑制作用は弱いため、単独ではもちろん、複数を組み合わせた場合においても、十分な美白効果を発現できる活性が得られないためである。

【0008】Gilchrestらは20～80才までのヒトを対象に、皮膚の太陽光に慢性的に暴露された部位と非暴露部位のメラニン形成細胞について検討した結果、暴露部位では非暴露部位と比較して、メラニン形成細胞密度が約2倍高いことを報告している[ジャーナル・オブ・インベスティゲイティブ・ダーマトロジー (J. Invest. Dermatol.) 73,141 (1979) ]。したがって皮膚の太陽光に暴露される部位ではメラニン形成する細胞が約2倍多いのに対し、同部位の皮膚の色調を非暴露部位と同等に維持するためには、メラニンの産生量を約1/2に抑制することが、十分な美白効果を発現するために必須と言える。

【0009】ところがこのような科学的・定量的な観点からの素材の探究はこれまで全くなされておらず、前記の従来用いられている素材について、新たにメラニン生成抑制作用を測定し評価すると、メラニンの産生量を約1/2に抑制できる素材は見当らなかった。

【0010】

【課題を解決するための手段】そこで本発明者らは、美白剤としては従来用いられておらず、かつ長期間使用した際も安全性が高いという要件を備えている素材について鋭意研究を行ってきた。その結果、驚くべきことにd- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールまたはd- $\beta$ -トコフェロールから選択される天然ビタミンEが、従来ビタミンEとして用いられてきたd- $\alpha$ -トコフェロールと比べ著しく優れた美白作用を有することを見出した。さらにこれらのd- $\alpha$ -トコフェロールを除く天然ビ

タミンE（以下、本発明天然ビタミンE）にL-アスコルビン酸もしくはコウジ酸を組合せると一層作用が強まり、美白剤として所期の目的を達成できることも見出し本発明を完成した。

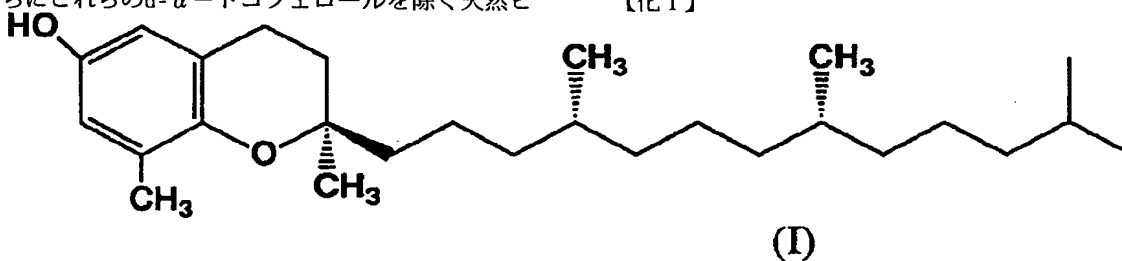
【0011】したがって本発明の目的は、臨床的有用性の高い美白剤を提供することにある。具体的には本発明天然ビタミンE、または本発明天然ビタミンEおよびL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体、または本発明天然ビタミンEおよびコウジ酸を有効成分とし、これらの組成物に製薬上または化粧品用として許容できる賦形剤を混合して、液剤・クリーム・軟膏・ローション等とした美白化粧品・浴用剤である。さらに本発明天然ビタミンEとは、具体的にはd- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロールおよび/またはd- $\beta$ -トコフェロール、およびその酢酸エステル、コハク酸エステル、ニコチン酸エステルなどの誘導体である。

【0012】従来美白剤として用いられているビタミンEとしては、大半が合成によって得られるd1- $\alpha$ -トコフェロールおよびその誘導体であり、さらに天然のd- $\alpha$ -トコフェロールを使用する実施例の開示はないが、特開昭60-51104にd- $\alpha$ -トコフェロールが好ましい旨の記載が見られる。しかし、d- $\delta$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロール、d- $\beta$ -トコフェロールを使用した実施例の開示、あるいは好ましい旨の記載はこれまでになかった。

【0013】本発明において用いるd- $\delta$ -トコフェロール(I)、d- $\gamma$ -トコフェロール(II)、d- $\beta$ -トコフェロール(III)、L-アスコルビン酸(IV)、その薬理学的に許容できる塩(V)およびその誘導体(VI)は下記化学構造式で表される。

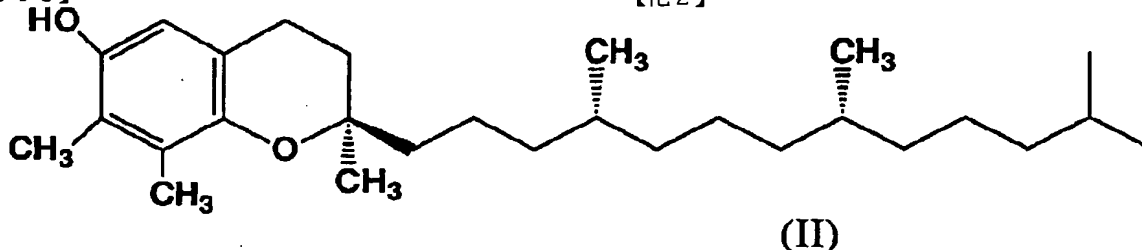
【0014】

【化1】



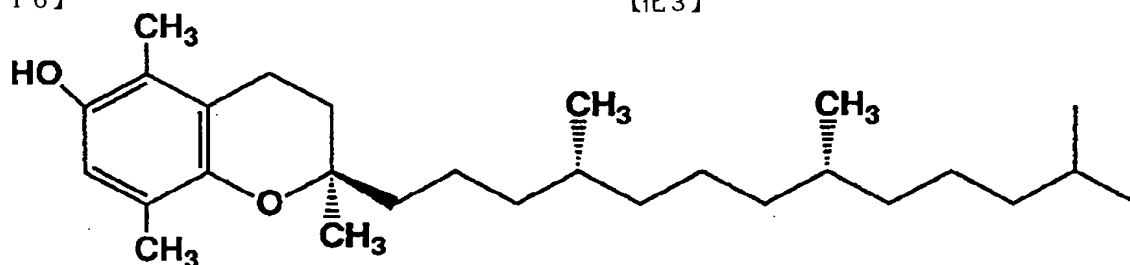
【0015】

【化2】



【0016】

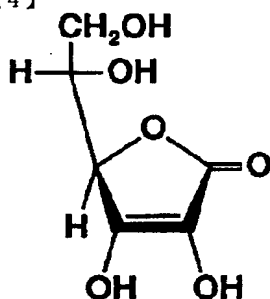
【化3】



(III)

【0017】

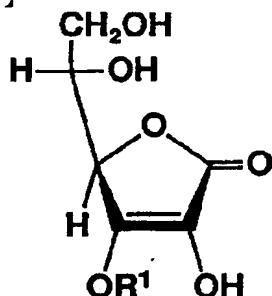
【化4】



(IV)

【0018】

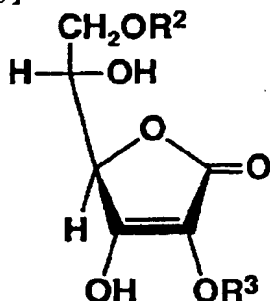
【化5】



(V)

【0019】

【化6】



(VI)

【0020】上記化合物はすべて、製薬、化粧品、食品、化学原料として入手可能である。L-アスコルビン酸の薬理学的に許容できる塩(V)においてR<sup>1</sup>とは、ナトリ

ウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどの金属を意味する。またL-アスコルビン酸の誘導体(VI)においてR<sup>2</sup>とはアシル基を意味し特に限定されないが、好ましくはミリストイル基、パルミトイル基、ステアロイル基などの長鎖アシル基を挙げる事ができ、さらにR<sup>3</sup>は水素原子もしくは上記の長鎖アルキル基を意味する。

【0021】ここで本発明天然ビタミンEとは、d-δ-トコフェロール、d-γ-トコフェロール、d-β-トコフェロールおよびその誘導体である。これらは単独で用いてもよいし、2種類以上を組み合わせてもよく限定されないが、単独で用いる場合、好ましくはd-δ-トコフェロールまたはd-γ-トコフェロールであり、さらに好ましくはd-δ-トコフェロールである。またその使用量は特に限定されず、また製剤によっても異なるが、通常は全重量に対して天然ビタミンEとして0.05~10重量%であり、好ましくは0.1~5重量%であり、さらに好ましくは0.2~2重量%である。

【0022】またL-アスコルビン酸もしくはその薬理学的に許容できる塩もしくはその誘導体の使用量も特に限定されず、また製剤によっても異なるが、通常は全重量に対して0.1~10重量%であり、好ましくは0.2~5重量%であり、さらに好ましくは0.5~3重量%である。

【0023】本発明の製剤の形状は特に限定されず、液剤、クリーム、軟膏、ローション、乳液、貼付剤、浴剤など、常法により所望の形状とすることができる。これら製剤の基剤原料としては、化粧品、医薬部外品、医薬品等に通常使用される各種原料を用いることが可能である。かかる美白化粧品・浴用剤を製造するには、一般に実施されている化粧品の製造方法を用いることができる。

【0024】使用できる基剤原料としては動植物油、鉱物油、エステル油、ワックス類、高級アルコール類、脂肪酸類、シリコン油、界面活性剤、リン脂質類、アルコール類、多価アルコール類、水溶性高分子類、粘土鉱物類、精製水などの公知の原料が挙げられる。さらに必要に応じ、pH調整剤、抗酸化剤、キレート剤、防腐防霉剤、着色料、香料などを添加することができる。また、他の美白作用や美肌作用を有する有効成分、血流促進剤、殺菌剤、消炎剤、細胞賦活剤、ビタミン類、アミノ酸、保湿剤、角質溶解剤等の成分を配合することもでき

る。他の美白作用等の成分としてはテプレノン、アゼライン酸、アルブチンおよびそれらの誘導体をあげることができる。なおこれら他の美白成分の添加量は、通常使われている濃度である。

【0025】本発明による美白外用剤は、化粧品として使用する以外にも、シミ・ソバカス等を予防・改善・治療する医薬品として使用することもできる。

【0026】本発明にかかる製剤を製造するには、たとえば本発明天然ビタミンEとスクワラン等の動植物油と高級アルコールを加温して油相とし、別にL-アスコルビン酸あるいはコウジ酸とグリセリン、パラベン、緩衝剤等を精製水に加温溶解して水相とする。この油相を水相に攪拌しながら添加し、高速乳化機を用いて乳化し、引き続き攪拌しながら室温に冷却して、天然ビタミンEとL-アスコルビン酸あるいはコウジ酸を含有したクリームを得ることができる。

【0027】次に本発明の効果を示すため、チロシナーゼ阻害作用とメラニン生成抑制作用の試験例ならびに併用効果例を実験例として挙げる。

#### 【実験例】

##### 実験例1

##### 天然ビタミンEのチロシナーゼ阻害活性とB16メラノーマ細胞に対する細胞毒性

【0028】(方法)

【0029】1)チロシナーゼ阻害活性

Pomerantz らの方法(ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー[J. Biol. Chem.], 238 巻, 2351-2357 頁, 1963年)に従い、測定用セルにL-ドーパ(0.3mM)、MacIlvaine緩衝液\* (0.98ml)および試料段階希釈液(1ml)を正確に分取して25℃に保温した。その後、マッシュルーム抽出チロシナーゼ (20μl, 100ユニット) をセルに加え、添加する前後の吸光度の変化(λ=475nm)を測

表1 天然ビタミンE同族体のチロシナーゼ阻害活性

および B16メラノ細胞蛋白量と B16メラノ細胞に対するIC<sub>50</sub> (M)

試料	チロシナーゼ酵素阻害	蛋白量 (%)	IC <sub>50</sub> (M)
コントロール	—	100	—
δ-ートコ	$> 2.5 \times 10^{-4}$	97.7	$7.4 \times 10^{-5}$
γ-ートコ	$> 2.5 \times 10^{-4}$	105.2	$7.4 \times 10^{-5}$
β-ートコ	$> 2.5 \times 10^{-4}$	109.2	$7.4 \times 10^{-5}$
α-ートコ	$> 2.5 \times 10^{-4}$	111.9	$9.7 \times 10^{-5}$
アルブチン	$> 3.7 \times 10^{-3}$	98.3	$1.8 \times 10^{-3}$
コウジ酸	$8.4 \times 10^{-5}$	97.1	$2.9 \times 10^{-3}$

試料濃度

δ、γ、β、α-ートコ	$7.5 \times 10^{-5} \text{M}$
アルブチン	$1.1 \times 10^{-4} \text{M}$
コウジ酸	$2.1 \times 10^{-5} \text{M}$

定して、コントロールに対する阻害率(IC<sub>50</sub>)を求めた。

【0030】(MacIlvaine緩衝液\* ; 0.2M-リン酸水素二ナトリウム、0.1M-クエン酸を成分とするpH6.5の緩衝液)

【0031】2)B16メラノーマ細胞に対する細胞毒性

【0032】標準培地(GIBCO社製、商品名; Eagles minimum essential medium)に10%ウシ胎児血清、ペニシリン(5万単位)、ストレプトマイシン(50mg/l)および炭酸水素ナトリウム(2.2g/l)を添加した培地(以下、10% FCS MEM)において、マウス由来のB16メラノーマ細胞を、炭酸ガス・インキュベーター(5% CO<sub>2</sub>)を用いて37℃で培養した。

【0033】あらかじめB16メラノーマ細胞を $2 \times 10^4$ セル/mlとなるように、10% FCS MEMを加え、96穴プレートに200μl分注し、24時間、37℃、5% CO<sub>2</sub>条件下で培養した。次に、各試料段階希釈液 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、0%となるよう、5日間同じ条件下で培養した。培養後、タンパク定量試薬(PIERCE社製、商品名; BCA Protein Assay Reagent)を用いて吸光度(λ=470nm)でタンパク量を測定した。またルービンシュタインらのMTT方法(ジャーナル・オブ・ザ・ナショナル・キャンサー・インスティテュート[J. National Cancer Institute], 82 巻13号, 1113-1118, 1990年)により各試料の細胞毒性(IC<sub>50</sub>)を求めた。

【0034】(結果)

【0035】結果を表1に示す。なお表中において、δ-ートコフェロールはδ-ートコ、d-γ-ートコフェロールはγ-ートコ、d-β-ートコフェロールはβ-ートコ、d-α-ートコフェロールはα-ートコとそれぞれ略す。(以下同様)

【0036】

【表1】

【0037】上記の表からδ-ートコ、γ-ートコ、β-ートコおよびα-ートコは、 $7.5 \times 10^{-5} \text{M}$ 濃度においてもマッ

シュルム由来のチロシナーゼ酵素に対し、酵素活性阻害作用を示さないことが明らかである。また  $\delta$ -ートコ、 $\gamma$ -ートコ、 $\beta$ -ートコあるいは  $\alpha$ -ートコのいずれを添加した場合においてもB16メラノマ細胞のタンパク量は変化せず、かつミトコンドリア量も増加傾向にあることから、細胞毒性は認められなかった。さらにB16メラノマ細胞に対するIC<sub>50</sub>は、 $\alpha$ -ートコが  $9.7 \times 10^{-4}$  M、 $\beta$ -ートコ、 $\gamma$ -ートコ、 $\delta$ -ートコはいずれも  $7.4 \times 10^{-5}$  M であった。この  $\beta$ -ートコ、 $\gamma$ -ートコ、 $\delta$ -ートコ添加培養系でのB16メラノマ細胞中のチロシナーゼ量を SDSページ電気泳動法により分離測定すると、チロシナーゼ量は、添加したトコフェロールの濃度に比例して低下していた。

#### 【0038】実験例2

##### 天然ビタミンEのメラニン生成抑制作用

##### 【0039】(方法)

【0040】B16メラノマ細胞を継代培養後、 $2 \times 10^4$  セル/ml になるよう 10%FCS MEM に加え培養用シャーレ (φ

=10cm) にて24時間培養した。培養後、各試料が毒性を示さなかった濃度 ( $7.5 \times 10^{-6}$  M) に調整した 10%FCS MEM で培地交換を行った後、同条件で 5日間培養した。培養後、等張緩衝塩類溶液 (日水製薬製、商品名; Dulbecco's PBS(-)) で洗浄し、0.25% トリプシン/エチレンジアミンテトラ酢酸 (EDTA) 溶液を用いて細胞を集め、さらに上記等張緩衝塩類溶液で再び洗浄した後、遠心分離 (100G) して細胞を得た。

【0041】得られた細胞に1mM-フェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF) 1mlを添加したリン酸緩衝液を加えた後、及川らの方法 (エール・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・メディシン [Yale J. Biol. Med.], 46巻、500-507頁、1973 年) により総メラニン量を吸光度 ( $\lambda = 400\text{nm}$ ) で測定した。

##### 【0042】(結果)

##### 【0043】

表2 天然ビタミンEのメラニン生成抑制作用  
(平均±標準誤差で示す)

トコフェロール試料濃度	B16メラニン生成量 (%)
	$3 \times 10^{-4} \% (7 \times 10^{-6} \text{M})$
$\delta$ -ートコ	55.5 ± 2.9 (n=4)
$\gamma$ -ートコ	74.3 ± 9.8 (n=4)
$\beta$ -ートコ	82.8 ± 2.8 (n=4)
$\alpha$ -ートコ	104.5 ± 3.9 (n=4)
酢酸 $\delta$ -ートコ	80.5 ± 2.3 (n=4)
酢酸 $\gamma$ -ートコ	94.0 ± 4.3 (n=4)
酢酸 $\beta$ -ートコ	101.0 ± 1.3 (n=4)
酢酸 $\alpha$ -ートコ	103.5 ± 3.1 (n=4)
アルブチン	78.3 ± 4.4 (n=3)
コウジ酸	73.0 ± 7.2 (n=3)
コントロール	100

【0044】本実験の結果、マウス由来のB16メラノマ細胞に対するメラニン生成抑制効果では、 $\alpha$ -ートコを除きコントロール培地に対して試料添加濃度  $3 \times 10^{-4} \% (7 \times 10^{-6} \text{M})$  でメラニン生成阻害作用を示した。また実験例1において測定した細胞毒性値は、本実験の試料濃度 ( $3 \times 10^{-4} \% , 7 \times 10^{-6} \text{M}$ ) と比較して約 100倍高く、トコフェロールがメラニン生成を抑制する濃度では、B16メラノマ細胞に対して毒性を示さないことが確認された。

【0045】さらに表2から、天然ビタミンE同族体のメラニン生成抑制作用は、 $\delta$ -ートコが最も強く、次いで  $\gamma$ -ートコ、 $\beta$ -ートコ、 $\alpha$ -ートコの順であることが明らかである。また従来、美白剤素材として多用されている  $\alpha$ -ートコは、コントロール (培地のみ; 無添加) と変わらず、ほとんどメラニン生成抑制作用は期待できない。また  $\beta$ -ートコ、アルブチンはメラニン生成抑制効果は認め

られるものの、いずれも生成量で 80%代であり十分な効果を有するとは言えない。

【0046】これに対し  $\delta$ -ートコは 55%、 $\gamma$ -ートコは 74%、コウジ酸は 73%と強力なメラニン生成抑制作用を有している。とりわけ  $\delta$ -ートコは、前記の十分な美白作用の目標であるメラニン生成の 50%抑制を単独でもほぼ達成しており、従来用いられてきた素材と比較して、著しく優れた美白作用が期待できる。

##### 【0047】実験例3

##### $\delta$ -ートコにL-アスコルビン酸もしくはコウジ酸を併用した場合のメラニン生成抑制作用

##### 【0048】(方法)

【0049】実験例2と同様にして、測定試料にさらにL-アスコルビン酸もしくはコウジ酸を添加し、総メラニン生成量を測定し比較した。



【0050】(結果)

【表3】

【0051】

表3 δ-トコにL-アスコルビン酸もしくはコウジ酸を併用した場合の  
メラニン生成抑制作用 (すべて n=3、平均±標準誤差で示す)

	B16メラニン生成量 (%)				
トコフェロール濃度	3x10 <sup>-4</sup> % (7x10 <sup>-6</sup> M)				
併用薬 添加量	なし	L-アスコルビン酸		コウジ酸	
	————	0.01%	0.03%	0.01%	0.03%
δ-トコ	55.5 ± 2.9	56.9 ± 0.6	41.2 ± 1.6	57.8 ± 2.1	38.9 ± 0.8
γ-トコ	74.3 ± 9.8	73.4 ± 1.1	67.1 ± 0.7	75.4 ± 0.5	73.4 ± 0.8
β-トコ	82.8 ± 2.8	————	————	91.0 ± 1.7	82.7 ± 1.8
α-トコ	104.5 ± 3.9	100.0 ± 2.0	99.6 ± 2.3	99.5 ± 1.0	100.0 ± 1.0
コントロール	100	100	100	100	100

【0052】このように強力なメラニン生成抑制作用を有するδ-トコに、作用機序の異なるL-アスコルビン酸あるいはコウジ酸を0.03%併用すると、表3から明らかなように、それぞれδ-トコ単独の場合と比べてさらに約15%以上メラニン生成量が減少し、より強力なメラニン生成抑制効果が認められた。したがって、δ-トコにL-アスコルビン酸あるいはコウジ酸を併用すると、メラニンの生成を約60%も抑制することが可能となる。

【0053】本発明は、このようにδ-トコ単独での優れた美白効果に加え、既存の素材との併用により、美白剤としてのポテンシーを飛躍的に高めることを可能とするものである。さらに本発明にかかるδ-トコ等の本発明天然ビタミンE、および既存素材との併用による優れた有効性は上述のように明らかであるが、これは本発明にかかるδ-トコ等の本発明天然ビタミンEが、チロシナーゼ合成阻害作用に基づく優れたメラニン産生抑制作用を有するためである。したがって前述のようにα-トコではほとんどメラニン生成抑制作用が期待できないことから、本発明は、これまでに開示されているコウジ酸

にα-トコを加えコウジ酸の有用性を高めたという発明(特公昭63-24968)とは、本質的に全く異なる発明である。

【0054】さらに、トコフェロール添加により、メラニン量を抑制されたB16メラノマ細胞を再度、トコフェロールを含まない系で培養した場合、細胞内メラニン量は順調に増加することより本抑制作用が可逆的な阻害作用であることが確認された。

【0055】次に本発明の製剤例を実施例として示す。下記の処方例によりそれぞれの製剤とするが、本発明の実施例がこれらのみに限定されないことは言うまでもない。

【0056】

【実施例】

実施例1

1% d-δ-トコフェロール含有クリーム

【0057】

【表4】

## &lt; 処方 &gt;

原 料	配合量 (重量%)
1) d- $\delta$ -トコフェロール	1. 0
2) スクワラン	10. 0
3) ミリスチン酸イソプロピル	7. 0
4) ベヘニルアルコール	1. 0
5) セトステアリルアルコール	5. 5
6) ステアリン酸モノグリセリン	2. 0
7) ポリオキシエチレン (20) ソルビタン・脂肪酸エステル	2. 0
8) キサンタンガム	0. 1
9) 1, 3-ブチレングリコール	2. 0
10) グリセリン	3. 0
11) ソルビトール	5. 0
12) パラベン	0. 2
13) 精製水	加えて 100. 0

## 【0058】&lt;製法&gt;

【0059】原料1～8を秤取し、80～90℃に加温溶解し、油相とする。原料8、9を混和し、原料10～11を加え、80～90℃に加温、攪拌、溶解し、水相とする。攪拌下、油相を水相に添加し、ホモミキサーを用いて乳化後、攪拌しながら室温まで冷却し、d- $\delta$ -トコフェロール

20 ル1%含有するクリーム剤を得た。

## 【0060】実施例2

1% L-アスコルビン酸 / 1% d- $\delta$ -トコフェロール含有  
クリーム

## 【0061】

【表5】

原 料	配合量 (重量%)
1) d- $\delta$ -トコフェロール	1. 0
2) L-アスコルビン酸	1. 0
3) スクワラン	10. 0
4) ミリスチン酸イソプロピル	7. 0
5) ベヘニルアルコール	1. 0
6) セトステアリルアルコール	5. 5
7) ステアリン酸モノグリセリン	2. 0
8) ポリオキシエチレン (20) ソルビタン・脂肪酸エステル	2. 0
9) キサンタンガム	0. 1
10) 1, 3-ブチレングリコール	2. 0
11) グリセリン	3. 0
12) ソルビトール	5. 0
13) パラベン	0. 2
14) リン酸水素二ナトリウム	適 量
15) 精製水	加えて 100. 0

## 【0062】&lt;製法&gt;

【0063】原料1、3～8を秤取し、80～90℃に加温溶解し油相とする。原料9、11を混和し、原料11～13、15を加え、80～90℃に加温、攪拌、溶解し、水相とす

る。水相に原料2、14を加え、攪拌下、油相を水相に添加し、ホモミキサーを用いて乳化後、攪拌しながら室温まで冷却し、d- $\delta$ -トコフェロール1%、L-アスコルビン酸1%を含有するクリーム剤を得た。

## 【0064】実施例3

1% リン酸-L-アスコルビル・マグネシウム / 1% d- $\delta$ -  
 ートコフェロール含有クリーム  
 <処方>

## 【0065】

【表6】

原 料	配合量 (重量%)
1) d- $\delta$ -ートコフェロール	1.0
2) リン酸-L-アスコルビル・マグネシウム	1.0
3) スクワラン	10.0
4) ミリスチン酸イソプロピル	7.0
5) ベヘニルアルコール	1.0
6) セトステアリルアルコール	5.5
7) ステアリン酸モノグリセリン	2.0
8) ポリオキシエチレン(20)ソルビタン・脂肪酸エステル	2.0
9) キサンタンガム	0.1
10) 1,3-ブチレングリコール	2.0
11) グリセリン	3.0
12) ソルビトール	5.0
13) パラベン	0.2
14) リン酸水素二ナトリウム	適 量
15) 精製水	加えて 100.0

## 【0066】&lt;製法&gt;

【0067】原料1、3～8を秤取し、80～90℃に加温溶解し油相とする。原料9、10を混和し、原料11～13、15を加え、80～90℃に加温、攪拌、溶解し、水相とする。水相に原料2、14を加え、攪拌下、油相を水相に添加し、ホモキサーを用いて乳化後、攪拌しながら室温まで冷却し、d- $\delta$ -ートコフェロール1%、リン酸-L-アス

コルビル・マグネシウム1%を含有するクリーム剤を得た。

## 【0068】実施例4

1% L-アスコルビン酸 / 1% 酢酸d- $\delta$ -ートコフェロール  
 含有クリーム

## 【0069】

【表7】

## &lt; 処方 &gt;

原 料	配合量 (重量%)
1) 酢酸 d- $\delta$ -トコフェロール	1. 0
2) L-アスコルビン酸	1. 0
3) スクワラン	10. 0
4) ミリスチン酸イソプロピル	7. 0
5) ベヘニルアルコール	1. 0
6) セトステアリルアルコール	5. 5
7) ステアリン酸モノグリセリン	2. 0
8) ポリオキシエチレン (20) ソルビタン・脂肪酸エステル	2. 0
9) キサンタンガム	0. 1
10) 1、3-ブチレングリコール	2. 0
11) グリセリン	3. 0
12) ソルビトール	5. 0
13) パラベン	0. 2
14) リン酸水素二ナトリウム	適 量
15) 精製水	加えて 100. 0

## 【0070】&lt;製法&gt;

【0071】原料1、3～8を秤取し、80～90℃に加温溶解し油相とする。原料9、10を混和し、原料11～13、15を加え、80～90℃に加温、攪拌、溶解し、水相とする。水相に原料2、14を加え、攪拌下、油相を水相に添加し、ホモミキサーを用いて乳化後、攪拌しながら室温  
< 処方 >

まで冷却し、d- $\delta$ -トコフェロール1%、L-アスコルビン酸1%を含有するクリーム剤を得た。

## 【0072】実施例5

1% コウジ酸 / 1% d- $\delta$ -トコフェロール含有クリーム

## 【0073】

【表8】

原 料	配合量 (重量%)
1) d- $\delta$ -トコフェロール	1. 0
2) コウジ酸	1. 0
3) スクワラン	10. 0
4) ミリスチン酸イソプロピル	7. 0
5) ベヘニルアルコール	1. 0
6) セトステアリルアルコール	5. 5
7) ステアリン酸モノグリセリン	2. 0
8) ポリオキシエチレン (20) ソルビタン・脂肪酸エステル	2. 0
9) キサンタンガム	0. 1
10) 1、3-ブチレングリコール	2. 0
11) グリセリン	3. 0
12) ソルビトール	5. 0
13) パラベン	0. 2
14) 精製水	加えて 100. 0

## 【0074】&lt;製法&gt;

【0075】原料1、3～8を秤取し、80～90℃に加温溶解し、油相とする。原料9、10を混和し、原料11～14

を加え、80～90℃に加温、攪拌、溶解し、水相とする。

水相に原料2を加え、攪拌下、油相を水相に添加し、ホモミキサーを用いて乳化後、攪拌しながら室温まで冷却

し、d- $\delta$ -トコフェロール1%、コウジ酸1%を含有するクリーム剤を得た。

【0076】実施例6  
＜処方＞

原 料	配合量（重量％）
1) d- $\delta$ -トコフェロール	3.0
2) プラスチベース50W	97.0

【0078】＜製法＞

【0079】原料1を秤量し、原料2を攪拌・混和しながら徐々に加え、十分混練し全質均等とし、3% d- $\delta$ -トコフェロール含有軟膏剤を得た。

＜処方＞

原 料	配合量（重量）
1) d- $\gamma$ -トコフェロール	0.5g
2) 精製大豆レシチン	0.7g
3) エタノール	10.0ml
4) d- $\alpha$ -トコフェロール	0.02g
5) プロピレングリコール	3.0g
6) キサンタンガム	0.1g
7) パラベン	0.1g
8) 精製水	加えて100.0ml

【0082】＜製法＞

【0083】原料6、7を原料5と混和し、精製水40mlを加え、85℃に加温、攪拌し、溶解したのち、室温まで冷却した。原料1～4を混和、60℃に加温溶解し、精製水40ml中に攪拌下に添加した。これらを混和し、精製水を加え、全量を100mlとして0.5% d- $\gamma$ -トコフェロー

＜処方＞

原 料	配合量（重量）
1) d- $\delta$ -トコフェロール	3.0g
2) 硫酸ナトリウム	67.2g
3) 炭酸水素ナトリウム	24.0g
4) 塩化ナトリウム	4.0g
5) ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.8g
6) 香料	1.0g

【0086】＜製法＞

【0087】上記各原料を均一に混合し、d- $\delta$ -トコフェロール含有浴用剤を得た。

【0088】実施例9

3% d- $\delta$ -トコフェロール含有軟膏剤

【0077】

【表9】

10 【0080】実施例7

0.5% d- $\gamma$ -トコフェロール含有ローション

【0081】

【表10】

ル含有ローションを得た。

【0084】実施例8

3% d- $\delta$ -トコフェロール含有浴用剤

30 【0085】

【表11】

3% L-アスコルビン酸／3% d- $\delta$ -トコフェロール含有浴用剤

【0089】

【表12】

## &lt; 処方 &gt;

原 料	配合量 (重量)
1) d- $\delta$ -トコフェロール	3.0 g
2) L-アスコルビン酸	3.0 g
3) 硫酸ナトリウム	64.2 g
4) 炭酸水素ナトリウム	24.0 g
5) 塩化ナトリウム	4.0 g
6) ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.8 g
7) 香料	1.0 g

【0090】&lt;製法&gt;

【0091】上記各原料を均一に混合し、L-アスコルビン酸/d- $\delta$ -トコフェロール含有浴用剤を得た。

【0092】

【対照例】

## &lt; 処方 &gt;

対照例1~3

実施例1~3と同様の方法で、次の処方により対照例1~3を得た。

【0093】

【表13】

原 料 名	対 照 例 1 クリーム基剤	対 照 例 2 1%L-アスコルビン酸 クリーム	対 照 例 3 1%コウジ酸 クリーム
L-アスコルビン酸	-	1.0	-
コウジ酸	-	-	1.0
スクワラン	10.0	10.0	10.0
ミリスチン酸イソプロピル	7.0	7.0	7.0
ベヘニルアルコール	1.0	1.0	1.0
セトステアリルアルコール	5.5	5.5	5.5
ステアリン酸モノグリセリン	2.0	2.0	2.0
ポリオキシエチレン(20)ソルビタン ・脂肪酸エステル	2.0	2.0	2.0
キサンタンガム	0.1	0.1	0.1
1、3-ブチレングリコール	2.0	2.0	2.0
グリセリン	3.0	3.0	3.0
ソルビトール	5.0	5.0	5.0
バラベン	0.2	0.2	0.2
リン酸水素二ナトリウム	-	適 量	-
精製水	加えて 100	加えて 100	加えて 100

【0094】本発明では、d- $\delta$ -トコフェロールに代表されるトコフェロール類を、従来の美白成分に併用することによって、皮膚でのメラニン生成をより確実に抑制し、色素の異常沈着によるシミの部分の着色を緩和し、日焼けによる着色を防ぎ、また日焼け後に使用することにより、日焼けの褪色を早めることができる。

【0095】次に本発明の臨床効果を示すため、以下に臨床効果例を挙げる。

【0096】

【臨床効果例】

&lt;方法&gt;

【0097】21~50才の女性20名をパネラーとした臨床効果比較試験を実施した。実施例1~3および対照例1~3の6種類の製剤について、どの試料がどの処方であるかをパネラーには知らせないブラインド方式で、毎朝・晩の1日2回、洗顔後に適量を顔面と下腕部の6ヶ所に、1製剤を3週間塗布し、6製剤のすべてについて順に、同一人物で下記評価基準と色差計により美白効果を

評価した。紫外線によるメラノサイト刺激は、常法通り雨天を除く毎日、屋外で約15分程度の太陽自然散光により行った。使用前後の皮膚明度(L)を色差計により測定  
 <評価基準>

し、また顔面のシミ・ソバカスへの効果を評価した。  
 【0098】  
 【表14】

+ : シミ、ソバカスが目立たなくなった  
 ± : シミ、ソバカスがあまり目立たなくなった  
 - : 塗布してない部分と比べ、変わらない

【0099】<結果>

10 【表15】

【0100】

表15 臨床効果の比較

試料	美白効果 (しみ、そばかす)			皮膚明度 (色差の平均値) *	
	+	±	-	試験前	試験後
実施例1	9	9	2	63.3	66.4
実施例2	14	4	2	62.7	68.1
実施例3	18	2	0	63.2	69.0
対照例1	0	1	19	63.1	58.9
対照例2	4	8	8	62.1	62.8
対照例3	8	5	7	63.9	64.9

\* 皮膚明度は [ L ] の表示で、数値が大きい程、皮膚の光反射率は大きく、白色度が高いという結果になる。

【0101】表4から明らかなように、本発明にかかる化粧料・浴用剤は美白効果に極めて優れており、日焼け

・老化などによる、皮膚の黒ずみ・くすみ・シミ・ソバカスの予防、改善・治療に有効である。

フロントページの続き

(72)発明者 日比 孝  
 埼玉県本庄市南 2-6-5 エーザイ青  
 雲寮

(72)発明者 田邊 義雄  
 埼玉県本庄市東台 2-3-9 メゾン小  
 暮201

(72)発明者 大沢 重光  
 埼玉県本庄市見福 1-10-12

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**